光周期对三带喙库蚊发育期间体内核酸动态的影响

薛瑞德 陆宝麟
(微生物流行病研究所，北京*)

摘要 作者测试了长短光周期处理的三带喙库蚊 *Culex tritaeniornynchus* (Giles) 各虫态与滞育及解滞蚊体内 RNA 与 DNA 的变化。结果表明：幼虫与蛹核酸含量最高，成虫期变化比较稳定。短光周期可以降低该蚊发育期间核酸的合成作用。雌蚊卵形成期间 DNA 相对稳定，吸血后卵巢开始发育，RNA 含量明显增加，36—48 小时达到高峰，然后逐渐下降。10—15 日龄的滞育蚊体内 DNA 比发育蚊低，解滞蚊 RNA 与 DNA 含量均比发育蚊为高。新蚊、发育、滞育与解滞蚊间 DNA、RNA 含量不同，DNA、RNA 减少与增加可用作判断滞育发生与解除的一个生化指标。

关键词 三带喙库蚊 光周期 滞育 核酸动态

蚊虫在生长发育与滞育期间体内蛋白质合成发生变化，而核酸是反映蛋白质合成能力的指标，并且发育与滞育的发生及解除与光周期改变有关，所以，研究光周期对三带喙库蚊 *Culex tritaeniorhynchus* (Giles) 发育期间体内核酸动态的影响，对该蚊滞育生理研究与判断滞育与否及解释越冬蚊早期发生现象都具有一定的参考价值。

关于蚊虫发育期间体内核酸动态的研究报告很少。Lang (1965) 对埃及伊蚊 *Aedes aegypti* (Linn.) 生长期体内蛋白质与核酸变化进行了研究，认为 RNA 的含量为蚊体蛋白质合成能力的指标，而 DNA 含量却为细胞内蛋白质合成的指标。Price (1965)、Ring (1973)分别对丝光绿蝇 *Lucilia sericata* (Mg.) 与红头丽蝇 *Calliphora erythrocephala* (R.-D.) 幼虫滞育与发育期间体内蛋白质与核酸含量变化进行了研究，发现短光周期诱导幼虫滞育期间，蛋白质与核酸含量及合成减少。 Fritz 等(1986)对埃及伊蚊发育期间体内核糖核酸酶的活动进行了测试，发现该酶在幼期活力强，成蚊卵黄合成期却没有明显变化。陈志辅等(1982—1983)报告了淡色库蚊 *Culex pipiens pallens* (C.) 卵黄发生期脂肪体核酸动态的研究。Miller (1979)曾对一些按蚊 RNA 合成作过测试。迄今，尚未见其他蚊体核酸动态与光周期对核酸影响以及滞育发生与解除期间体内核酸动态分析的报告。作者将 1986—1987 年对三带喙库蚊体内核酸动态的测试，结果报道如下。

材 料 与 方 法

一、材料来源与处理 材料为实验室养殖的三带喙库蚊北京株 (70—90 代) 与上海株(15—20 代)。滞育的诱导是用广东医疗器械厂生产的光照培养箱，温度 25±1.5℃，光

本文于 1988 年 5 月收到。
本工作中得到赵彤言、张京生等同志的帮助，特致谢忱。
* 100071 北京丰台区七里庄路 23 号(甲)。

周期 8 小时/天，从四龄幼虫与蛹开始处理。滞育的解除也是用上述培养箱，光周期 16 小时/天，持续 4 天以上。滞育的判断是以吸血活动受抑制，卵巢第一滤泡发育停止，一、二滤泡最大横径比值≤1.5 为指标。

卵、幼虫与蛹标本用吸管吸取后放入小烧杯内用蒸馏水冲洗干净，吸到滤纸上并用针挑到匀浆器内。成蚊标本是用氯仿麻醉后去翅、足再放入匀浆器，每类标本用 10 只，每只干重约为 660μg，分 2 组，重复 2—3 次，取其均数。吸血蚊麻醉后去除消化道与生殖、排泄器官后放入匀浆器。卵巢用显微镜观察滤泡发育期限。

二、RNA 与 DNA 的提取与测试步骤 RNA 的提取与测试是用 95% 乙醇与醋酸钾溶液匀浆后倒入指形管离心 20 分钟 (4000 转/分)，弃去上清液，用乙醚清洗沉淀物 2 次，用 0.2mol/L $HClO_4$ 洗 4 次，再用 0.3mol/L KOH(1.5ml) 水解沉淀物，37℃ 下放置 1 小时或更长时间。将水解物置冰中冷却，加 0.6V 的 1.2mol/L $HClO_4$ 1.5ml，放入 4℃冰箱 10 分钟，取出后再离心 20 分钟，取上清液用 751G 型分光光度计，波长 260nm，测试光密度指数。DNA 的提取与测试参照 Giles (1965)、特纳 (1984) 等方法。用 0.2mol/L $HClO_4$ 匀浆，离心 (4000 转/分) 20 分钟，弃去上清液，用 0.2mol/L $HClO_4$ 洗 4 次，用 95% 乙醇洗一次，然后用 1.0mol/L $HClO_4$ 3ml 在 80℃ 条件下加热半小时提取 DNA。取提取液 0.6ml 加 2.4ml DPA 试剂(现配)，再加入 1/20 乙醛 0.03ml，摇晃放置过夜(超过 12 小时)后变蓝色，用 751G 型分光光度计，波长 600nm，测试其光密度指数。

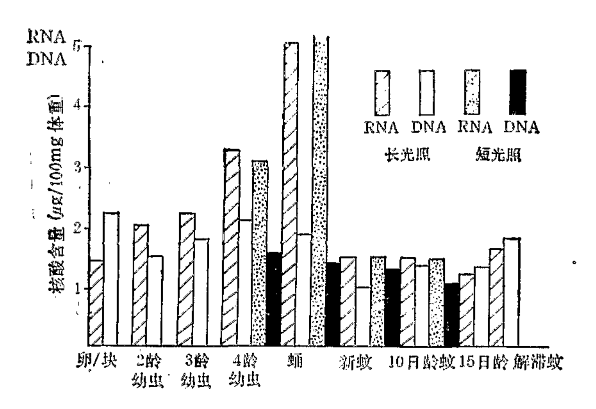


图 1 三带喙库蚊各生活史阶段体内核酸含量的比较

结 果 与 讨 论

一、发育期间体内 DNA、RNA 含量变化 三带喙库蚊生活史阶段包括卵、幼虫、蛹与成虫。各阶段的形态大小以及合成代谢等都不相同，所以核酸的含量也不相同。四龄幼虫与蛹体内核酸含量最高，其次为成虫，早期幼虫含量最少，结果与形态大小基本一致。三带喙库蚊各生活史阶段体内核酸含量变化与 Lang (1965) 报道的埃及伊蚊基本相似，与 Fritz (1986) 报道的幼虫期核糖核酸酶活力强的结果也有所相似。并且看到蛹期 DNA 减少，RNA 明显增高，这与 Lang 报道的埃及伊蚊蛹期 RNA 减少有所不同，可能因种间差异所致。各生活史阶段核酸含量见图 1。

二、成蚊日龄与核酸动态的关系 新羽化的雌雄成蚊体内 DNA、RNA 含量较低，

随着日龄增长逐渐增加，第 8 日龄以后核酸增加并不明显。DNA 比 RNA 含量较为稳定，结果与 Lang (1965) 报道的埃及伊蚊基本相似。另外也看到雌雄成蚊体内 DNA、RNA 动态基本相似，但雄蚊的含量却低于雌蚊。日龄与核酸动态的关系见图 2、3。

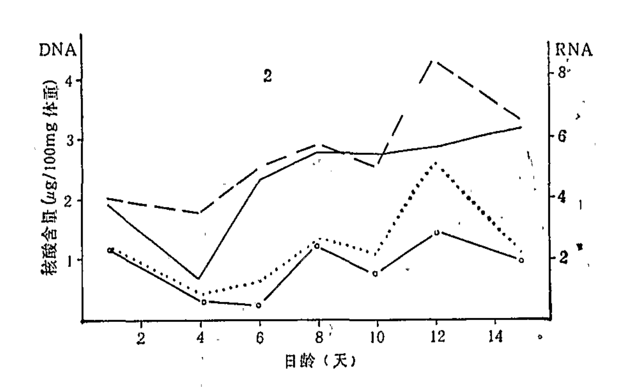


图 2　日龄与光照对三带喙库蚊雄蚊体内核酸的影响

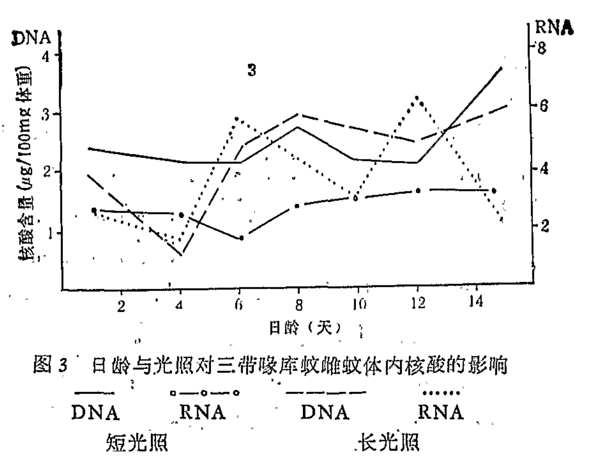


图 3　日龄与光照对三带喙库蚊雌蚊体内核酸的影响

—— DNA　o—o—o RNA　短光照
— — — DNA　······ RNA　长光照

三、光周期对核酸动态的影响　短光周期处理的三带喙库蚊组各生活史阶段体内 DNA、RNA 含量基本上都低于长光周期组，幼虫阶段更为明显。短光周期处理的蛹期 RNA 较高于长光周期组，可能由于蛹期体内变态蛋白质合成加快所致，结果见图 1—3。从图可以看出，短光周期组的核酸含量明显低于长光周期组，提示短光周期可以抑制或降低三带喙库蚊发育期间体内的核酸代谢活动，结果与 Ring (1973) 报道的短光周期可以降低丝光绿蝇幼虫体内核酸代谢基本相似。

四、胃血消化、滤泡发育与核酸动态的关系　吸血三带喙库蚊生殖营养协调、胃血消化、同时卵巢发育，在此期间 DNA 含量比较稳定，RNA 变化非常明显。RNA 在吸血后 6 小时开始增加，滤泡开始发育，36—48 小时达高峰；以后逐渐下降，72 小时 RNA 含量下降到吸血前水平，此蚊卵已接近成熟，产卵后核酸也没有明显变化。RNA 出现高峰期间，胃血消化已达 5—6 期，滤泡发育达 III—V 期，说明卵黄蛋白合成明显增加，提示 RNA 动态变化与卵黄蛋白合成相关。陈志辅等(1982—1983)报道淡色库蚊吸血后 30—

36 小时 RNA 达高峰，DNA 含量没有明显变化，认为 RNA 高峰出现在卵黄蛋白合成之前，与卵黄蛋白合成有关。本结果与陈氏报道及 Miller (1979) 所报道的两种按蚊 RNA 代谢情况基本相似，但因蚊种不同，高峰出现时间略有差异。胃血消化、卵巢滤泡发育期间核酸动态见图 4。

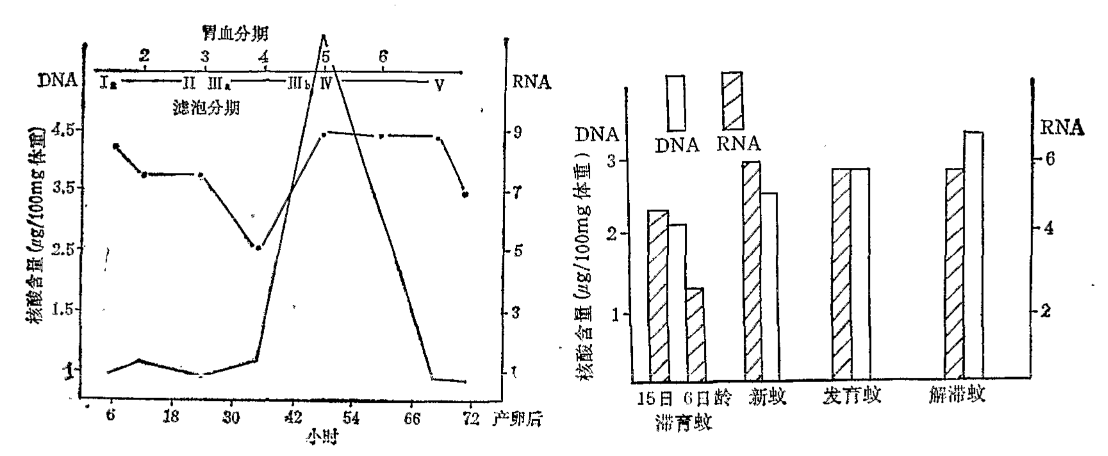


图 4 三带喙库蚊胃血消化、滤泡发育期间体内核酸动态
○—○ DNA —— RNA

图 5 滞育蚊与其他状态蚊体内核酸含量的比较

五、滞育蚊与其他蚊体内核酸含量比较 短光周期诱导滞育的三带喙库蚊雌蚊体内 DNA 含量低于长光周期下的发育蚊与解滞蚊，滞育蚊 RNA 含量接近于新蚊与发育蚊，但早期滞育蚊 (6 日龄以内) RNA 却低于其他状态蚊，提示滞育发生早期 RNA 酶活动弱，代谢降低，滞育后脂肪体增加，相应蛋白质合成也有所增加。短光周期诱导滞育发生的开始阶段 RNA 含量变化与关雪辰等(1982)报道七星瓢虫滞育出现核酸减少的现象基本相似。解滞蚊体内 RNA、DNA 比其他状态蚊为高，可能与受抑的核酸合成酶系统重新激活后蛋白质合成增加有关。Ring (1973) 研究表明，核酸增加是丝光绿蝇幼虫解除滞育的一个很好的生化指标，减少是滞育发生的象征。关雪辰等(1982)报道核酸增加与减少可做为七星瓢虫滞育出现与结束的一个生化指标。本研究三带喙库蚊成蚊核酸代谢结果与 Ring 及关氏分别报道的丝光绿蝇与七星瓢虫基本相似。所以，作者认为核酸含量减少可作为三带喙库蚊晚秋季节出现滞育的信号，核酸含量增加可作为判断早春三带喙库蚊解滞发生的一个生化指标。滞育蚊与其他状态蚊体内核酸含量比较见图 5。

参 考 文 献

关雪辰等 1982 七星瓢虫成虫脂肪体核酸代谢与生殖滞育的关系。昆虫学报 **25**(3): 239—43。

陈志辅等 1982—1983 淡色库蚊卵黄发生期脂肪体核酸动态的研究。昆虫学研究集刊 **3**: 43—8。

R. B. 特纳编著(李丽英等译) 1984 昆虫分析生物化学。科学出版社 p. 27—123。

Fritz, M. A. et al 1986 Changes in ribonuclease activity during development of the mosquito, *Aedes aegypti*. *Comp. Biochem. Physiol.* 84B(3): 355—61

Lang, C. A. et al 1965 Protein and nucleic acid changes during growth and aging in the mosquito. *Biochem. J.* **95**: 372—7.

Giles, K. W. et al 1965 An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonuclei acid. *Nature* **206**: 93.

Miller, S. 1979 RNA synthesis in two species of anopheline mosquitoes. *Insect Biochem.* **9**: 509—15.

Price, G. M. 1965 Nucleic acid in the larvae of the blowfly, *Calliphora erythrocephala*. *J. Insect Physiol.* 11: 869—78.
Ring, R. A. 1973 Changes in dry weight, protein, and nucleic acid content during diapause and normal development of the blowfly, *Lucilia sericata*. *J. Insect Physiol.* 19: 481—94.

EFFECTS OF PHOTOPERIOD REGIME ON NUCLEIC ACID KINETICS DURING DEVELOPMENT OF *CULEX TRITAENIORHYNCHUS* GILES

Xue Rui-de　Lu Bao-lin
(Institute of Microbiology and Epidemioloyy, Beijing 100071)

The DNA and RNA levels have been determined in the mosquito *Culex tritaeniorhynchus* Giles throughout the developmental stages in long and short light regimes and during adult diapause and at diapause termination. The results indicate that maximal values of both components are attained during the larval and pupal development and the levels remain constant during adult life to senescence. It was also shown that short photoperiod would reduce nucleic acid synthesis in different developmental stages. The DNA levels remain relatively constant during ovarian development of the female mosquitoes. After a blood meal, the RNA content began to increase and reached a peak by 36 to 48 hours and then gradually decreased. The DNA level is lower in female mosquitoes during diapause in 10 to 15 days after emergence than that in non-diapausing female mosquitoes of the same strain. Both DNA and RNA levels are higher in females at diapause termination than that in non-diapausing females. Since the DNA and RNA levels differ in the diapausing, non-diapausing and diapause terminating mosquitoes, they may be used as a biochemical indicator of the physiological status of the mosquitoes.

Key words *Culex tritaeniorhynchus*——photoperiod——diapause——nucleic acid kinetics